"نشریه علوم و فناوری بذر ایران"
جلد هفتم، شماره ۲، پاییز و زمستان ۹۷
(ص ۱۸۲-۱۷۱)

Iranian Journal of
Seed Science and Technology
Vol.: 7, No.: 2, Autumn and Winter 2018
(pp: 171-182)
DOI: 10.22034/ijsst.2019.109919.1074

اثر پرولین بر شاخص‌های جوانه‌زنی بذر رقم کاستیل چغندرقند تحت تنش خشکی

حمیده غفاری[۱] و محمودرضا تدین[۲*]

۱. دانشجوی دکتری فیزیولوژی گیاهان زراعی. دانشگاه شهرکرد، دانشکده کشاورزی
۲. دانشیار گروه زراعت، دانشگاه شهرکرد، دانشکده کشاورزی

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۱۲/۲۰؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۰۶/۲۶)

چکیده

تنش‌های محیطی به ویژه خشکی، از مهمترین عوامل کاهش رشد در مراحل رشد و نمو گیاه به‌ویژه مرحله جوانه‌زنی گیاه است. بنابراین به منظور بررسی مکانیسم جوانه‌زنی و بهبود شاخص‌های جوانه‌زنی بذر چغندرقند تحت تنش خشکی با استفاده از پلی‌اتیلن گلیکول و تحت پیش تیمار با پرولین، مطالعه‌ای در آزمایشگاه زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهرکرد به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی با ۴ تکرار در سال ۱۳۹۵ انجام گرفت. در این آزمایش تیمارها شامل پنج سطح پتانسیل آب (شاهد یا آب مقطر، ۲-، ۶-، ۱۰- و ۱۴- بار) و قرار گرفتن بذور در محلول‌های ۵ و ۱۰ میلی‌مولار پرولین و آب مقطر (شاهد) بودند. صفات درصد جوانه‌زنی، ضریب سرعت جوانه‌زنی، جوانه‌زنی نسبی، زمان جوانه‌زنی، ضریب آلومتری، شاخص طولی بنیه و وزنی بذر چغندرقند اندازه‌گیری شدند. صفات درصد جوانه‌زنی، ضریب سرعت جوانه‌زنی، جوانه‌زنی نسبی، شاخص طولی بنیه و وزنی بذر چغندرقند با افزایش سطوح خشکی کاهش یافتند، در حالی‌که متوسط زمان جوانه‌زنی و ضریب آلومتری افزایش داشتند. پیش تیمار بذر با پرولین، درصد جوانه‌زنی، ضریب سرعت جوانه‌زنی، جوانه‌زنی نسبی و شاخص طولی بنیه و وزنی چغندرقند را تحت تنش خشکی افزایش داد. به علاوه، پیش تیمار بذر با ۱۰ میلی‌مولار پرولین باعث کاهش به ترتیب ۱۰ و ۲۵ درصدی متوسط سرعت جوانه‌زنی و ضریب آلومتری نسبت به تیمار شاهد شد. در نهایت، پیش تیمار بذر با پرولین به طور موثری می‌تواند اثرات بازدارنده تنش خشکی بر صفات جوانه‌زنی بذر چغندرقند را کاهش دهد.

کلمات کلیدی: پرولین، ضریب سرعت جوانه‌زنی، متوسط زمان جوانه‌زنی و چغندرقند.

Effect of proline on seed germination indices of Castile Sugar beet cultivar seed Germination Criteria under drought stress

H. Ghaffari[1] and M.R. Tadayon[2*]

[1]Ph.D Student of Crop physiology, Shahrekord University

[2] Associate Professor of Agronomy Department, Shahrekord University

(Received: Mar. 10, 2017– Accepted: Sept. 17, 2017)

Abstract

Environmental stress, especially drought stress, can play an important role in the reduction of the plant growth stage, specifically during germination. To explore the germination mechanism of drought-stressed germination indices of sugar beet improved by exogenous proline, an experiment was conducted in factorial randomized complete design with four replications in laboratory, Faculty of Agriculture, University of Shahrekord in 2016. In this experiment, treatments included five levels of drought treatments (distilled water,-2,-6,-10 and-14 bar) and seed soaking with Proline (0 (control), 5 and 10 mM. Results indicated that germination percent, coefficient of velocity of germination, relative germination and seed length and weight vigor index of sugar beet seeds significantly decreased under drought stress, while increased mean germination time and allometry coefficient. Soaking with exogenous proline improved the germination percent, coefficient of velocity of germination, relative germination and seed length and weight vigor index of sugar beet under drought stress. Moreover, application of 10 mM proline decreased mean germination time and allometry coefficient 10 and 25% as compared to the control, respectively. In a word, soaking with proline could effectively alleviate the inhibitory effects of drought stress on sugar beet seed germination.

Key words: Exogenous proline, coefficient of velocity of germination, mean germination time and sugar beet.

* Email: mrtadayon@yahoo.com

مقدمه

تنش خشکی عامل محدودکننده‌ای در رشد و نمو گیاهان بوده و باعث کاهش عملکرد گیاهان می‌شود. در بسیاری از گیاهان زراعی جوانه‌زنی بذر و رشد اولیه گیاهچه از حساس‌ترین مراحل نسبت به تنش‌های محیطی است (Kaya *et al*., 2006). اولین مشکل در راستای تولید گیاهان زراعی در شرایط خشکی مربوط به جوانه‌زنی و استقرار مناسب گیاه زراعی در مزرعه است. واضح است که جوانه‌زنی مطلوب و به دنبال آن استقرار مناسب و یکنواخت گیاه در مزرعه می‌تواند راه را برای تولید گیاه قابل قبول از نظر کمی و کیفی هموار سازد (Massarat *et al*., 2013). تنش خشکی به طور مستقیم و غیر مستقیم با تاثیر روی متابولیسم بذر باعث کاهش درصد جوانه‌زنی بذرهای به‌دست آمده شده و با افزایش این تنش‌ها ضریب جوانه‌زنی و وزن خشک گیاهچه‌ها به طور چشمگیری کاهش می‌یابد (Soltani *et al*., 2007). پلی‌اتیلن گلیکول (PEG) پلی‌مری قابل انعطاف و غیر سمی بوده و می‌تواند باعث ایجاد فشار اسمزی منفی گردد. این ماده تمایلی به واکنش با مواد شیمیایی و بیولوژیکی ندارد و این ویژگی، PEG را به یکی از مفیدترین مولکول‌ها برای ایجاد فشار اسمزی منفی در آزمایش‌های بیوشیمیایی (بویژه ایجاد تنش اسمزی) تبدیل کرده است (Macar, 2009). تحمل بالای چغندرقند به خشکی با توجه به طولانی بودن دوره رشد رویشی، عدم نیاز به سپری نمودن مرحله حساس گلدهی، دارا بودن سامانه ریشه‌ای عمیق و قابلیت تنظیم اسمزی تقویت شده است. حساسیت پایین این گیاه به کمبود آب در محیط‌هایی با رطوبت متغییر و توانائی تولید اقتصادی در چنین محیط‌هایی باعث شده است که به عنوان یک گیاه ویژه مناطق خشک و نیمه خشک به شمار آید (Jones *et al*., 2003). با اینکه چغندرقند گیاهی است مقاوم به خشکی است، اما جهت دستیابی به عملکرد بالا بکارگیری راهکارهائی که بتواند اثر تنش خشکی را کاهش دهد بسیار مورد توجه پژوهشگران بوده است. پیش تیمار بذر به عنوان یک فناوری آسان، کم هزینه راه‌حلی است که برای بهبود جوانه‌زنی بذرها پیشنهاد شده است. برخی از مواد شیمیایی مانند پلی‌آمین‌ها به عنوان مولکول‌های پیام‌رسان ممکن است اثرات مطلوبی بر جوانه‌زنی و رشد و نمو گیاه داشته باشند (Massarat *et al*., 2013).

هنگامی‌که گیاهان در تماس با شرایط تنش‌زا قرار می‌گیرند، متابولیت‌هایی به ویژه اسیدهای آمینه در گیاه تجمع پیدا می‌کند. اسیدهای آمینه به عنوان پیش ماده و جز اصلی پروتئین‌ها شناخته شده هستند، و نقشی مهم در متابولیسم و نمو گیاه دارند. مطالعات بسیاری نشان از همبستگی مثبت بین تجمع پرولین و تنش گیاه دارد. پرولین یک اسید آمینه است که نقش سودمند و چشمگیری در گیاهان تحت شرایط تنش بازی می‌کند. بر این اساس به عنوان یک اسمولیت برتر عمل می‌کند. مطالعات نشان می‌دهد که محیط تنش‌زا منجر به تولید بیش از حد پرولین در گیاهان می‌شود که از طریق حفظ فشار سلولی یا تعادل اسمزی، پایداری غشاها از طریق جلوگیری از نشت الکترولیت‌ها و پاکسازی رادیکال‌های آزاد اکسیژن باعث تحمل گیاه می‌شود. گزارش‌ها نشان می‌دهد کاربرد پرولین خارجی در غلظت کم باعث افزایش تحمل گیاه به تنش می‌شود (Hayat *et al*., 2012). در مطالعات احسان‌زاده و فتاحیان (Ehsanpur and Fatahian, 2003) گزارش شده است که کاربرد خارجی پرولین در محیط کشت تحت تنش منجر به افزایش وزن خشک و همچنین محتوای پرولین آزاد در سلول‌های کالوس یونجه (*Medicago sativa*) می‌شود. کاربرد پیش تیمار پرولین، اثرات مخرب تنش خشکی را بر گندم کاهش داد و منجر به افزایش رشد گیاه شد (Kamran *et al*., 2009). مطالعات زیادی بیان می‌کنند پرولین خارجی می‌تواند به طور موثری شاخص‌های جوانه‌زنی گیاهان زراعی مختلف را تحت شرایط تنش بهبود دهد (Hua-long *et al*., 2014). با توجه به اینکه خشکی یک واقعیت غیر قابل انکار در

مناطق کشاورزی است که روندی صعودی دارد و نیز تامین روز افزون غذا، نیاز به‌کارگیری راهکارهایی دارد که ضمن اقتصادی و مقرون به صرفه‌بودن کارایی مناسبی نیز داشته باشند. از آنجا که در کشور به دلیل محدودیت‌های ناشی از خشکسالی‌های مداوم و کمبود آب، تولید چغندرقند در مناطق مختلف محدود شده است ضرورت ارایه راهکارهایی جهت ارتقاء جوانه‌زنی و بهبود مکانیسم‌های رشد چغندرقند تحت شرایط تنش خشکی ضروری به نظر می‌رسد. بنابراین هدف از این مطالعه، بررسی مکانیسم جوانه‌زنی بذر چغندرقند رقم کاستیل تحت تنش خشکی و بهبود آن با پرولین خارجی و فراهم کردن راهکارهایی برای توسعه فناوری کشت مستقیم تحت کمبود آب، به وسیله پیش تیمار بذر با پرولین بر شاخص‌های جوانه‌زنی بوده است.

مواد و روش‌ها

این مطالعه در سال ۱۳۹۵ در آزمایشگاه تکنولوژی بذر گروه زراعت دانشکده کشاورزی دانشگاه شهرکرد در داخل اتاقک رشد با دمای ثابت ۲۵ درجه سانتی‌گراد به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی با ۴ تکرار انجام گرفت.

تیمارهای آزمایشی شامل:

عامل اول: پنج سطح پتانسیل آب (شاهد یا آب مقطر، ۲-، ۶-، ۱۰- و ۱۴- بار) بودند که پتانسیل‌های مختلف آب توسط غلظت‌های مختلف پلی اتیلن گلیکول ۶۰۰۰ (PEG 6000) ایجاد شدند، و از طریق فرمول Michel and Kaufman, 1973) طبق رابطه زیر تهیه گردید:

رابطه (۱)

$$\Psi s = -C\,(1.18 \times 10\text{-}2) - C^{2}\,(1.18 \times 10^{-4}) + CT\,(2.67 \times 10^{-4}) + C^{2}T\,(8.39 \times 10^{-7})$$

در این رابطه: Ψs، پتانسیل اسمزی (مگا پاسکال)، C غلظت ۶۰۰۰ PEG براساس گرم بر کیلوگرم H_2O و T دما بر اساس درجه سانتی‌گراد می‌باشد.

عامل دوم قرار گرفتن بذور در محلول‌های ۵ و ۱۰ میلی‌مولار پرولین و آب مقطر (شاهد) برای دو روز در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد (Hua-long *et al*., 2014) بود و در این آزمایش از بذر منوژرم چغندرقند رقم کاستیل (هلندی و مقاوم به رایزومانیا) که از مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی شهرکرد تهیه شد، استفاده گردید، سازمان جهاد کشاورزی استان هر ساله بنا بر اولویت کاشت، ارقامی را تهیه و در اختیار کشاورزان قرار می‌دهد. لذا در سال زراعی ۱۳۹۵ از این توده بذری استفاده شد. این بذر تولید کشور بلژیک و در سال ۲۰۱۵ می‌باشد. این بذر با دو سال قوه نامیه و با ۸۵ درصد جوانه‌زنی در مزرعه معرفی شده است.

به منظور جوانه‌زنی بذر، ابتدا پتری‌ها به مدت ۲ ساعت در اتو کلاو در دمای ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد استریل شدند. سپس در هر پتری ۵۰ عدد بذر تیمار شده با محلول‌های فوق به صورت یکنواخت قرار داده شد. غلظت‌های مختلف اسمزی به تیمارهای تنش و آب مقطر به تیمارهای فاقد تنش اضافه شدند. تعداد بذور جوانه‌زده به صورت روزانه شمارش شدند. پتری‌ها به طور روزانه، به منظور داشتن محلول کافی، بررسی می‌شدند. بذرها در مدت ۹ روز در دمای ۲۵ درجه‌سانتی‌گراد در اتاقک رشد جوانه زدند؛ و زمانی که طول ریشه‌چه به ۲ میلی‌متر رسید به عنوان نماد جوانه‌زنی فرض گردید. درصد و سرعت جوانه‌زنی هر ۲۴ ساعت در طول ۹ روز محاسبه شد (Ashrafi and Razmjoo, 2014).

صفات اندازه‌گیری شده

پس از ده روز صفات زیر اندازه‌گیری شدند:

- درصد جوانه‌زنی[1] (Ikic *et al*., 2012)

رابطه (۲)

$$G_P = (N_g / T_n) \times 100$$

در این رابطه: G_P = درصد جوانه زنی، N_g= تعداد بذرهای جوانه‌زده، T_n= تعداد کل بذور

[1] Germination Percentage

- متوسط زمان جوانه‌زنی[۲] (Ya-jing, 2009)

رابطه (۳) $MGT = \sum (G_t \times T_t) / \sum G_t$

در این رابطه: MGT = میانگین زمان جوانه زنی، G_t= تعداد بذرهای جوانه‌زده در روز tام، T_t = زمان متناظر برای G_t در روزها

- ضریب سرعت جوانه‌زنی[۳] (Baiyeri *et al*., 2011)

رابطه (۴) $CVG = (\sum G_t / \sum (G_t \times T_t)) \times 100$

در این رابطه: CVG = ضریب سرعت جوانه‌زنی، G_t = تعداد بذرهای جوانه زده در روز tام، T_t = زمان متناظر برایG_tدر روزها

- جوانه‌زنی نسبی[۴] (Rho and Kil, 1986)

رابطه (۵) $RG = (TGS / CGS) \times 100$

در این رابطه:RG = جوانه‌زنی نسبی، TGS= تعداد بذرهای جوانه‌زده تیمار، CGS = تعداد بذرهای جوانه زده شاهد

- ضریب آلومتری[۵] (Ebrahimi *et al*., 2013)

رابطه (۶) $AC = SL/RL$

در این رابطه:AC = ضریب آلومتری، SL = طول ساقه‌چه (cm)، RL = طول ریشه‌چه (cm)

- شاخص طولی بنیه بذر[۶] (Ebrahimi *et al*., 2013)

رابطه (۷) =شاخص طولی بنیه بذر (SLVI)
طول گیاهچه (سانتی‌متر) × درصد جوانه‌زنی

- شاخص وزنی طولی بذر[۷] (Ebrahimi *et al*., 2013)

رابطه (۸) =شاخص وزنی بنیه بذر(SWVI)
وزن خشک گیاهچه (گرم) × درصد جوانه‌زنی

[2] Mean Germination Time
[3] Coefficient of Velocity of Germination
[4] Relative Germination
[5] Allometry Coefficient
[6] Seed Length Vigor Index
[7] Seed Weight Vigor Index

تجزیه‌های آماری

داده‌های برگرفته از بخش آزمایشگاهی با استفاده از نرم افزار آماری SAS تجزیه واریانس شدند. در صورت معنی‌دار بودن اثر عوامل آزمایشی، از آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار (LSD) در سطح احتمال ۵ درصد برای مقایسه میانگین تیمارها استفاده شد. رسم نمودارها با استفاده از نرم‌افزار Excel ترسیم شدند.

نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس اثر سطوح خشکی برای تمام صفات شامل درصد جوانه‌زنی، متوسط زمان جوانه‌زنی، ضریب سرعت جوانه‌زنی، جوانه‌زنی نسبی، ضریب آلومتری، شاخص طولی بنیه و وزنی معنی‌دار بود، در حالی‌که اثر سطوح پرولین تنها برای صفت شاخص طولی بنیه معنی‌دار نبود (جدول ۱). همچنین برهمکنش سطوح خشکی و پرولین برای صفات درصد جوانه‌زنی، جوانه‌زنی نسبی، ضریب آلومتری و شاخص طولی بنیه و وزنی معنی‌دار بود (جدول ۱).

مقایسه‌های متوسط درصد جوانه‌زنی نشان داد با افزایش سطوح تنش خشکی درصد جوانه‌زنی به طور چشمگیری کاهش یافت. این نتایج با گزارش مسرت و همکاران (Massarat *et al*., 2013) مطابقت دارد، آنها تاکید کردند سطوح تنش خشکی می‌تواند جوانه‌زنی را با کاهش جذب آب توسط بذر تحت تاثیر قرار دهد. همچنین آن‌ها بیان کردند مولکول‌های پلی‌اتیلن گلیکول نمی‌توانند وارد بذر گردند، این مولکول‌ها فاقد اثر سمی بر جوانه‌زنی بذر هستند. مقایسه میانگین سطوح خشکی و پرولین بر درصد جوانه‌زنی نشان داد بالاترین درصد جوانه‌زنی مربوط به تیمار عدم تنش و پیش تیمار با آب مقطر و سپس تیمار PEG ۲- بار تحت تیمار ۱۰ میلی‌مولار پرولین با ۹۵٪ جوانه‌زنی بود، این نتایج نشان می‌دهد با افزایش سطوح تنش خشکی، کاربرد تیمار پرولین باعث افزایش درصد جوانه‌زنی شده است (شکل ۱).

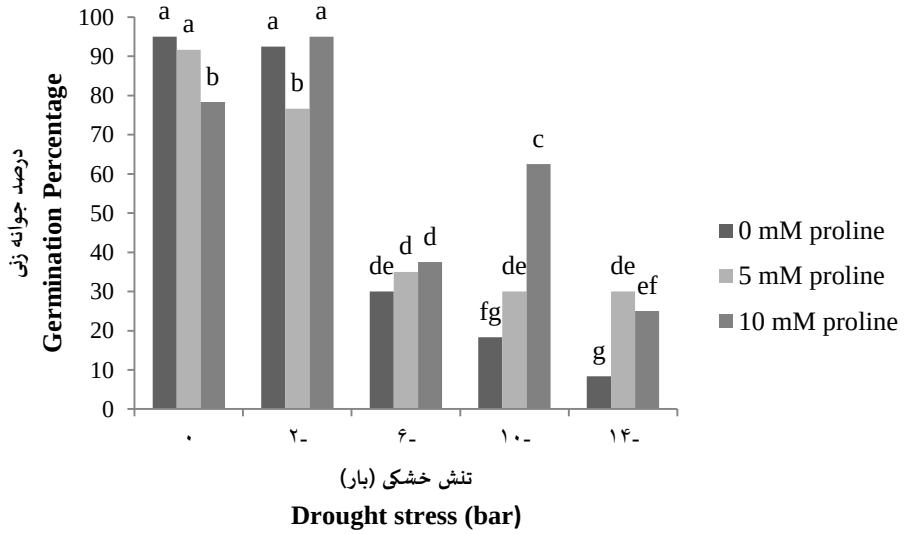
جدول ۱- نتایج تجزیه واریانس شاخص‌های جوانه‌زنی چغندرقند تحت سطوح تنش خشکی و پرولین

Table 1- Analysis of variance for the effect of drought levels and proline on germination indices of sugar beet

منابع تغییرات Source of variance	درجه آزادی df	درصد جوانه‌زنی Germination Percentage	متوسط زمان جوانه‌زنی Mean Germination Time	ضریب سرعت جوانه‌زنی Coefficient of Velocity of Germination	جوانه‌زنی نسبی Relative Germination	ضریب آلومتری Allometry Coefficient	شاخص طولی بنیه Seed Length Vigor Index	شاخص وزنی بنیه Seed Weight Vigor Index
خشکی Drought	4	6156.02***	4.96***	169.75***	5252.0***	0.031**	21.74**	0.0334***
پرولین Proline	2	301.68**	0.85**	17.39**	226.2**	0.194***	0.20ns	0.0063***
خشکی×پرولین Drought × Proline	8	346.46***	0.18ns	3.62ns	170.29**	0.106***	0.70**	0.0014**
خطا Error	45	24.38	0.088	2.35	32.01	0.005	0.12	0.0002
ضریب تغییرات (درصد) CV. (%)		9.19	6.91	6.27	11.46	6.95	6.09	14.80

ns، *، ** و *** به ترتیب بیانگر معنی‌دار نبودن، معنی‌دار بودن در سطوح ۵، ۱ و ۰/۱ درصد.

ns, *, ** and *** show non significance and significance at 5, 1 and 0.1 % level, respectively.



شکل ۱- برهمکنش سطوح تنش خشکی و تیمار پرولین بر درصد جوانه‌زنی

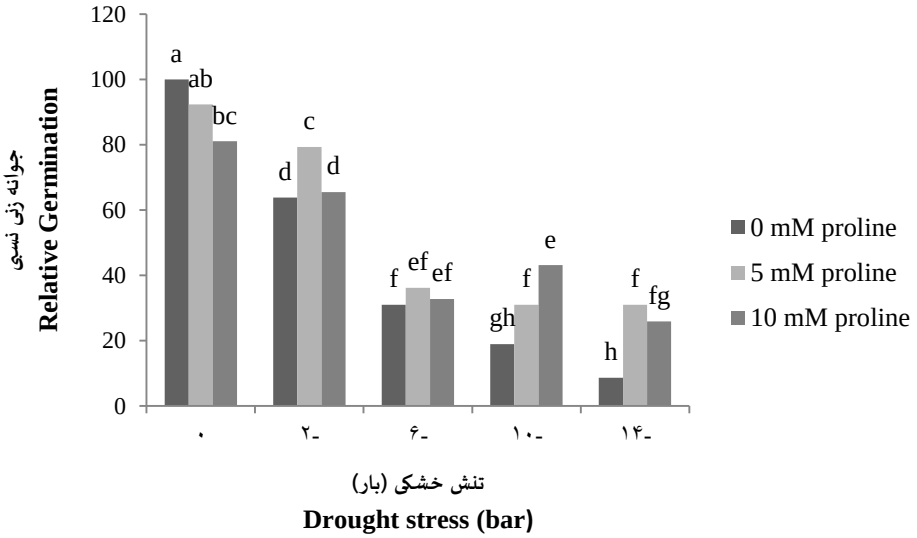
Figure 1- Interaction between drought and proline levels on germination percentage

در مطالعه هـو لانـگ و همکـاران (Hua-long *et al.*, 2014) نشان دادند که پیش تیمار بذر با پرولین باعث کـم کردن اثرات بازدارنده تنش خشکی بر جوانه‌زنی بذر برنج شد. تنش خشکی باعث بازدارندگی جوانه‌زنـی بـذر شـده که به دلیل عدم تعادل در جذب آب، تخریب غشا سلول و کاهش فعالیت آنزیم‌های جوانـه‌زنـی اسـت کـه هیـدرولیز اندوخته غذایی را محدود می‌کند و باعـث کـاهش انتقـال ذخیره غذایی از بافـت ذخیـره‌ای بـه محـور توسـعه جنـین می‌شود. با بررسی نتایج سایر محققان می‌توان عنـوان کـرد که درصد جوانه‌زنی به تنهائی نمی‌تواند تمـامی جنبـه‌هـای جوانه‌زنی را روشن کند. از ایـن رو بررسـی صـفاتی ماننـد متوسـط زمـان جوانـه‌زنـی و ضـریب سـرعت جوانـه‌زنـی ضروری به نظر می‌رسد (Jajarmi, 2012).

متوسط زمان لازم برای جوانه‌زنـی بـا افـزایش سـطوح خشکی افـزایش یافـت و زمـان بیشـتری بـرای جوانـه‌زنـی صرف شد، به طوری که تیمار PEG ۱۴- بار، افـزایش ۶۸ درصدی نسبت به تیمار شاهد نشان داد و کمترین متوسـط زمان جوانه‌زنی مربوط به تیمار شاهد بـا ۳/۲ بـود (جـدول ۲). بـــا توجـــه بـــه مشـــاهدات کـــافی و رحیمـــی (Kafi and Rahimi, 2009) متوسـط زمـان جوانـه‌زنـی بـا افزایش تنش خشکی تا PEG ۵- بار تغییر معنی‌داری نکرد ولی منفی‌تـر شـدن پتانسـیل آب بـر ایـن شـاخص بـه‌طـور معنی‌داری تاثیر منفی گذاشت و طول این دوره را افزایش داد. پیش تیمار بـذر بـا پـرولین متوسـط زمـان جوانـه‌زنـی کمتری نسبت به پیش تیمار بذر بـا آب مقطـر نشـان داد و این بـرای سـطوح ۵ و ۱۰ میلـی‌مـولار بـه ترتیـب ۱۱ و ۱۰ درصـد کـاهش نسـبت بـه پـیش تیمـار بـا آب مقطـر بـود (جـدول ۲). در ایـن راسـتا جاجـارمی (Jajarmi, 2012) گزارش کرد متوسط زمان جوانـه‌زنـی بـا افـزایش سـطوح تنش خشکی افزایش می‌یابد که با نتایج به‌دسـت آمـده از این پژوهش مطابقت دارد. می‌توان اشاره کرد کـه ارقـامی با متوسط زمان جوانه‌زنی کمتر دارای سـرعت جوانـه‌زنـی بیشتری هستند این موضوع به‌ویژه در شرایط کـم رطوبـت در استقرار سریعتر گیاه تاثیر دارد (Jajarmi, 2012).

مقایسه‌های میانگین سطوح خشکی بر ضریب سـرعت جوانه‌زنی نشان داد سطح شـاهد بیشـترین ضـریب سـرعت جوانه‌زنی را داشت و با افـزایش سـطوح خشـکی تـا PEG ۱۴- بار ضریب سـرعت جوانـه‌زنـی کـاهش یافـت و ایـن کاهش معادل ۴۰ درصـد در مقایسـه بـا تیمـار شـاهد بـود، ضریب سرعت جوانه‌زنی در سطوح پیش تیمار با پرولین ۵ و ۱۰ میلی‌مولار به ترتیب با ۲۵/۴۸ و ۲۴/۹۱ نسبت به پیش تیمار با آب مقطر با ۲۲/۹۷ بیشتر بودند (جدول ۲). ضریب سرعت جوانه‌زنی شاخصی از سرعت و شـتاب جوانـه‌زنـی روزانه است. ضریب سرعت جوانه‌زنی که تعداد روز برای جوانه‌زنی بذر است، با افزایش تنش خشـکی مـدت زمـان لازم برای جوانه‌زنی افزایش و ضریب سـرعت جوانـه‌زنـی کاهش می‌یابد (Massarat *et al.*, 2013).

مقایسه‌های میانگین جوانه‌زنی نسبی نشان داد بـالاترین میزان مربوط بـه تیمـار شـاهد بـا ۹۱/۱۲ و کمتـرین میـزان مربوط به تیمار PEG ۱۴- بار بود. با توجـه بـه نتـایج بـالا، علت وقوع را می‌تـوان افـزایش غلظـت محلـول پلـی‌اتـیلن گلیکول و همچنین افزایش فشار و پتانسیل اسمزی محـیط کشت دانست که به کاهش جذب آب توسط بذرها منجر شده و همچنین مانع ادامه فعالیت‌های طبیعی گیاهچه شـده اسـت (Akhavan Armaki *et al.*, 2013). بـرهمکنش سطوح خشـکی و پـرولین بـر جوانـه‌زنـی نسـبی نشـان داد افزایش سطوح تنش خشکی و پیش تیمار بذر با آب مقطر دارای کمترین جوانه‌زنی نسبی بـین تیمارهـا را داشـتند بـه طوری که کمترین جوانه‌زنی نسبی مربوط بـه تیمـار PEG ۱۴- بار و پیش تیمار با آب مقطر با ۸/۶۲ بود و کاهش ۹۱ درصدی نسبت به تیمار شاهد نشان داد (شکل ۲).



شکل ۲- برهمکنش سطوح تنش خشکی و تیمار پرولین بر جوانه‌زنی نسبی

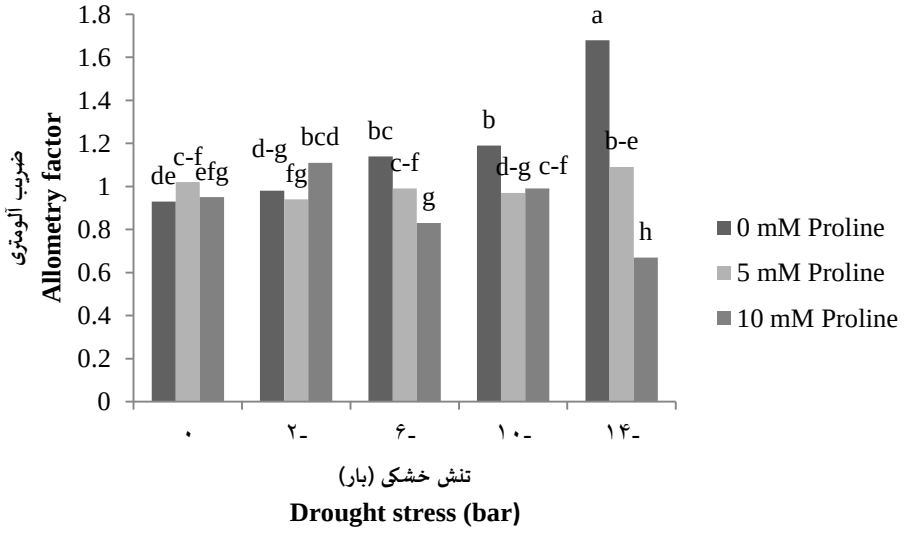
Figure 2- Interaction between drought and proline levels on relative germination

جذب آب توسط بذر در سه مرحله انجام می‌شود. در مرحله اول، جذب سریع آب توسط بذر (آب‌نوشی) که وابسته به ترکیب شیمیایی بذر، فراهمی میزان آب و وضعیت پوسته بذر دارد، مرحله دوم، جذب آب متوقف می‌شود و باعث فعال شدن هورمون‌ها و آنزیم‌ها می‌شود، آنزیم‌های محور جنین مانند آلفا آمیلاز با دریافت رطوبت باعث تجزیه اجزاء پروتئینی و نشاسته‌ای بذر می‌شود. اسیدهای آمینه و قندهای قابل مصرف به وفور در اختیار جنین قرار می‌گیرند. مرحله سوم، مرتبط با جذب مجدد آب است که در آن ظهور ریشه‌چه و طویل‌شدن اتفاق می‌افتد (Li, 2006). پس از خیساندن بذر در محلول پرولین، مرحله اول به پایان می‌رسد. بنابراین، جوانه‌زنی نسبی و ضریب سرعت جوانه‌زنی با پیش تیمار بذر با پرولین تحت شرایط تنش به دلیل افزایش اسمولیت‌های درون سلولی و کاهش عدم تعادل جذب آب در مراحل دوم و سوم بهبود می‌یابند (Hua-long *et al*., 2014). انتقال مواد ذخیره‌ای از بافت ذخیره‌ای به منظور توسعه محور جنین به فعالیت آمیلاز (شامل آلفا امیلاز، بتا آمیلاز) بستگی دارد تا زمانی که، گیاهچه رشد کند و بتواند فتوسنتز انجام دهد وخود کفا شود (Nandi *et al*., 1995).

تنش خشکی به طور چشمگیری باعث کاهش فعالیت آمیلازها در طول مراحل جوانه‌زنی می‌شود که هیدرولیز مواد ذخیره‌ای را محدود می‌کند. مطالعات انجام شده توسط هو لانگ و همکاران (Hua-long *et al*., 2014) نشان داد فعالیت آمیلازها شامل آلفا آمیلاز، بتا آمیلاز و آمیلاز کل تحت شرایط تنش به ترتیب ۱۰/۱، ۱۳/۹ و ۱۳/۲ درصد در مقایسه با شرایط عدم تنش کاهش یافتند. پیش تیمار بذر با پرولین با غلظت مناسب تحت شرایط تنش خشکی، کاهش فعالیت آمیلاز را تقلیل داد، در حالی‌که غلظت‌های بالای پرولین تاثیری نداشتند. مطالعات نشان می‌دهد فعالیت آمیلاز با غلظت مناسب پرولین تحت شرایط تنش باعث انتقال سریع مواد ذخیره‌ای به محور جنین می‌شود و در نتیجه مواد و انرژی کافی برای جوانه‌زنی بذر را فراهم می‌کند.

ضریب آلومتری که برآیند تقسیم طول ساقه‌چه بر ریشه‌چه است با افزایش سطوح خشکی افزایش یافت که نشان می‌دهد با افزایش سطوح خشکی نسبت کاهش طول ساقه‌چه به ریشه‌چه کمتر بود و این در حالی بود که پیش تیمار بذر با آب مقطر بالاترین ضریب آلومتری را دارا بود و سطوح بالاتر پرولین باعث کاهش ضریب آلومتری شد.

برهمکنش سطوح خشکی و پرولین بر ضریب آلومتری روند ثابتی را نداشت با این حال تیمار PEG ۱۴- بار و پیش تیمار با آب مقطر با ۱/۶۸ بالاترین ضریب آلومتری را نشان داد (شکل ۳). در این راستا ابراهیمی و همکاران (Ebrahimi *et al*., 2013) با بررسی تنش خشکی بر جوانه‌زنی دو گونه مرتعی اظهار داشتند که تنش خشکی به طور معنی‌داری سبب کاهش درصد و سرعت جوانه‌زنی، و افزایش ضریب آلومتری گردید.



شکل ۳- برهمکنش سطوح تنش خشکی و تیمار پرولین بر ضریب آلومتری

Figure 3- Interaction between drought and proline levels Allometry Coefficient

مقایسه‌های میانگین نشان داد با افزایش سطوح خشکی شاخص طولی و وزنی بنیه کاهش یافتند و این کاهش در تیمارهای PEG ۱۴- بار بیشتر بود، که نشان‌دهنده کاهش بیش‌تر قدرت رویش بذر در اثر تنش خشکی است. با منفی شدن پتانسیل آب شاخص بنیه گیاهچه کاهش می‌یابد (Rahimi and Kafi, 2009). بین سطوح پیش تیمار با پرولین بر شاخص طولی بنیه تفاوتی از لحاظ آماری مشاهده نشد. مقایسه‌های میانگین برهمکنش سطوح خشکی و پرولین بر شاخص طولی بنیه و وزنی نشان داد با افزایش سطوح خشکی بالاتر و سطوح پرولین اختلاف آشکاری با تیمار شاهد مشاهده شد و کمترین شاخص طولی و وزنی بنیه مربوط به تیمار PEG ۱۴- بار و پیش تیمار بذر به ترتیب با ۰/۰۹ و ۰/۰۰۵ بود که به ترتیب کاهش ۹۸ و ۹۷ درصدی نسبت به شاهد داشتند (شکل‌های ۴ و ۵). شاخص بنیه بذر نشان‌دهنده تداوم جوانه‌زنی و تولید گیاهچه‌های قوی و سالم است و هرچه قدرت رویش بذر بیش‌تر باشد نشان‌دهنده کیفیت بالای بذرهای تولیدی است (Ahmadi, 2014).

بین صفات مورد مطالعه درصد جوانه‌زنی بیشترین همبستگی مثبت را با ضریب سرعت جوانه‌زنی و جوانه‌زنی نسبی و شاخص طولی و وزنی بنیه داشت در حالی که همبستگی منفی با متوسط سرعت جوانه‌زنی داشت (جدول ۳).

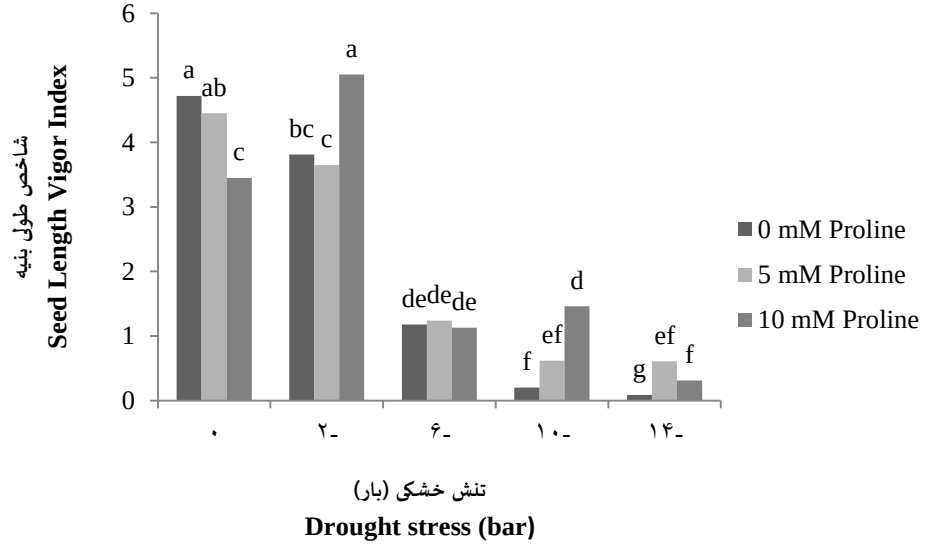
جدول ۲- مقایسه متوسط اثرات سطوح تنش خشکی و پرولین بر متوسط زمان و ضریب سرعت جوانه‌زنی چغندرقند

Table 2- Effects of drought stress and proline on mean germination time and coefficient of velocity of germination of sugar beet.

عامل آزمایشی Treatments	متوسط زمان جوانه‌زنی Mean Germination Time	ضریب سرعت جوانه‌زنی Coefficient of Velocity of Germination
خشکی Drought		
0 PEG	3.20^{c}	31.43^{a}
-2 PEG	3.52^{c}	28.57^{b}
-6 PEG	4.59^{b}	22.34^{c}
-10 PEG	4.80^{b}	21.16^{c}
-14 PEG	5.37^{a}	18.77^{d}
LSD	0.37	1.89
پیش تیمار بذر Seed Soaking		
آب مقطر Distilled water	4.62^{a}	22.97^{b}
۵ mM پرولین 5 mM proline	4.09^{b}	25.48^{a}
۱۰ mM پرولین 10 mM proline	4.16^{b}	24.91^{a}
LSD	0.28	1.46

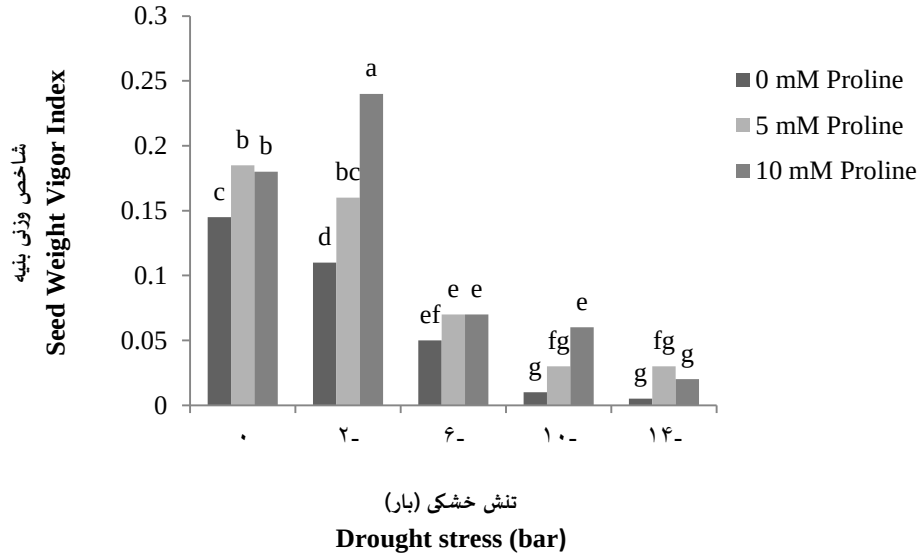
در هر ستون و برای هر واحد آزمایشی، متوسط‌هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک هستند، بر اساس آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار (LSD) در سطح ۵ درصد اختلاف معنی داری ندارد.

Mean values followed by the same letter are not significantly different at P≥ 0.05 level as determined by LSD test.



شکل ۴- برهمکنش سطوح تنش خشکی و تیمار پرولین بر شاخص طولی بنیه

Figure 4- Interaction between drought and proline levels on seed length vigor index



شکل ۵- برهمکنش سطوح تنش خشکی و تیمار پرولین بر شاخص وزنی بنیه

Figure 5- Interaction between drought and proline levels on seed weight vigor index

جدول ۳- همبستگی بین صفات شاخص‌های جوانه‌زنی تحت پیش تیمار پرولین در سطوح مختلف تنش خشکی

Table 3- Correlation between germination indices under drought stress and proline

	GP	MGT	CVG	RG	AC	VI	VII
GP	1						
MGT	-0.88***	1					
CVG	0.89***	-0.99***	1				
RG	0.93**	-0.89***	0.92***	1			
AC	-0.30	0.42*	-0.36*	-0.33	1		
V I	0.97***	-0.87***	0.90***	0.93***	-0.20	1	
V II	0.89***	-0.85***	0.87***	0.86***	-0.19	0.94***	1

^ *، ** و *** به ترتیب بیانگر معنی‌دار بودن در سطوح ۵، ۱ و ۰/۱ درصد.

(GP: درصد جوانه‌زنی، MGT: متوسط سرعت جوانه‌زنی، CVG: ضریب سرعت جوانه‌زنی، RG: جوانه‌زنی نسبی، AC: ضریب آلومتری، VI شاخص طولی بنیه و VII شاخص وزنی بنیه).

*, ** and *** show significance at 5, 1 and 0.1 % level, respectively.

(GP: Germination Percentage, MGT: Mean Germination Time, CVG: Coefficient of Velocity of Germination, RG: Relative Germination, AF: Allometry Coefficient, VI: Seed Length Vigor Index and VII: Seed Weight Vigor Index)

نتیجه‌گیری

در این مطالعه تنش خشکی باعث کاهش شاخص‌های جوانه‌زنی شد علت وقوع را می‌توان افزایش غلظت محلول پلی‌اتیلن گلیکول و همچنین افزایش فشار و پتانسیل اسمزی محیط کشت دانست که به کاهش جذب آب توسط بذرها منجر شده و همچنین مانع ادامه فعالیت‌های طبیعی گیاهچه شده است، همچنین پیش تیمار بذر با پرولین باعث بهبود شاخص‌های جوانه‌زنی مورد مطالعه تحت شرایط تنش خشکی القایی توسط پلی اتیلن

گلیکول گردید و در نتیجه بذرهای چغندرقند سریعتر جوانه‌زده و رشد کردند. پرولین اثر بازدارنده تنش بر جوانه‌زنی بذور چغندرقند را کاهش داد که احتمالا به دلیل بهبود پتانسیل اسموتیک درونی بذور چغندرقند و توانایی پرولین به ذخیره آب کافی تحت تنش خشکی است. در واقع نتایج این پژوهش نشان داد کاربرد پرولین در شرایط بدون تنش کمک شایانی به جوانه‌زنی بذر چغندرقند نمی‌کند، در حالی که در شرایط بروز تنش خشکی، کاربرد پرولین توانست بهبود قابل توجهی نسبت به شرایط بدون کاربرد پرولین در همان سطح تنش بکار گرفته شده داشته باشد.

References

منابع

Ahmadi Seyed, S.A. 2014. Evaluation of germination and vigor parameters of rapeseed parents' seeds resulted from the heat and drought stress at the end of growth season. Crop Physiol. J. 5(17): 61-75. (In Persian, with English Abstract)

Akhavan Armaki, M., H. Azarnavand., M.H. Asareh., A. Ashraf Jafari, and A. Tavili. 2013. Effects of water stress on germination indices in four genotypes of rangeland species *Bromus tomentellus*. J. Range Watershed Manage. 66(2): 167-177. (In Persian, with English Abstract)

Ashrafi, E, and J. Razmjoo. 2014. Effect of seed treatment on safflower (*Carthamus tinctorius* L.) germination under salt and drought stress conditions. Agron. J. 104: 15-20. (In Persian, with English Abstract)

Baiyeri, K.P., F.D. Ugese, and T.O. Uchendu. 2011. The effect of pervious treatments on passion fruit seed quality, and seedling emergence and growth qualities in soilless media. J. Agric Techol. 7 (5): 139 –1407.

Ebrahimi, O., M. M. Esmaili., H. Sabori, and A. Tahmasebi. 2013. Effects of salinity and drought stress on germination two spices of (*Agropyron elongatum*, *Agropyron desertrum*). Desert Ecosystem Engine J. 1: 31-38. (In Persian, with English Abstract)

Ehsanpour, A. A, and N. Fatahian. 2003. Effects of salt and proline on *Medicago sativa* callus. Plant Cell Tissue Organ Cult. 73:53-56.

Hayat, S., Q. Hayat., M. N. Alyemeni., A.S. Wani., J. Pichtel, and A. Ahmad. 2012. Role of proline under changing environments: A review. Plant Signal Behav. 7 (11): 1456-1466.

Hua-long, L., S. Han-jing., W. Jing-guo., L. Yang., Z. De-tang, and Z. Hong-Wei. 2014. Effect of seed soaking with exogenous proline on seed germination of rice under salt stress. J. North Agric Univ. 21(3):1-6.

Ikic, I., M. Maricevic., S. Tomasovic., J. Gunjaca., Z.S. Atovic, and H.S. Arcevic. 2012. The effect of germination temperature on seed dormancy in Croatian-grown winter wheat. Euphytica 188:25-34.

Jajarmi, V. 2012. Effect of drought stress on germination indices in seven wheat cultivars (*T. aestivum* L.). J. Agron. Plant Breeding. 8(4): 183-192. (In Persian, with English Abstract)

Jones, P.D., D.H. Lister., K.W. Jaggard, and J.D. Pidgeon. 2003. Future climate change impact on the productivity of sugar beet (*Beta vulgaris* L.) in Europe. Climatic Change. 58: 93-108.

Kamran, M., M. Shahbaz., M. Ashraf., N.A. Akram. 2009. Alleviation of drought- induced adverse effects in spring wheat (*Triticum aestivum* L.) using proline as a pre-sowing seed treatment. Pak. J. Bot. 41:621-632.

Kaya, M. D., G. Okcu., M. Atak., Y. Cıkılı, and O. Kolsarıcı. 2006. Seed treatments to overcome salt and drought stress during germination in sunflower (*Helianthus annuus* L.). Eur J. Agron. 24: 291- 295.

Li, H. S. 2006. Modern Plant Physiology. 2nd ed. Higher Education Press, Beijing. pp. 251-252.

Macar, T. K., T. Ozlem, and Y. Ekmekci. 2009. Effect of deficit induced by PEG and NaCl on chickpea (*Cicer arientinum* L.) cultivars and lines at early seedling stages. Gazi Univ. J. Sci. 22(1): 5-14.

Massarat, N., A. Siadat., M. Sharafizadeh, and B. Habibi. 2013. The effect of priming on germination and growth of maize hybrid SC704 in drought and salinity stress condition. J. Plant Ecophysiol. 15: 13-25. (In Persian, with English Abstract)

Michel, B.E, and M.R. Kaufmann. 1973. The Osmotic potential of polyethylene glycol 6000. Plant physiol. 51:914-916.

Nandi, S., G. Das, and S. Sen-Mandi. 1995. β-amylase activity as an index for germination potential in rice. Ann. Bot. 75(5): 463-467.

Rahimi, Z, and M. Kafi. 2009. Effects of drought stress on germination characteristics of purslane (*Portulaca oleracea* L.). Environ Stresses. Agric. Sci. 2(1): 87-91. (In Persian, with English Abstract)

Rho, B.J., and B.S. Kil. 1986. Influence of phytotoxin *Pinus rigida* on the selected plants. J. Natur Sci. Wonkwang University. 5: 19-27.

Soltani, E., F. Akram Ghaderi, and H. Memar. 2007. The effect of priming on germination components and seeding growth of cotton seeds under drought. J. Agric. Scie Natur Resource. 14(5): 9-16.

Ya-jing, G., H. Jin., W. Xian-ju, and S. Chen-xia. 2009. Seed priming with chitosan improves maize germination and seedling growth in relation to physiological changes under low temperature stress. J. Zhejiang Univ. Sci. 10:427-433.